

ショウジョウバエを用いた統合失調症脆弱遺伝子のスクリーニング

: DISC1 と Nr_x-1 の遺伝的相互作用による神経発生異常

吉村 由祐子 (筑波大学 生物学類)

指導教員: 古久保-徳永 克男 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

統合失調症は、全人口の約1%に発症する精神疾患である。主な症状として、幻覚や妄想などの陽性症状と、意欲減退などの陰性症状に大別される。環境要因と遺伝的要因の双方が関与すると考えられているが、発症過程のメカニズムについては多くが未解明である。

近年、ヒトゲノムワイド遺伝子解析といった遺伝学的研究により、統合失調症脆弱遺伝子が多数リストアップされている。なかでも、DISC1 (Disrupted in Schizophrenia 1) はスコットランドの統合失調症多発家系の遺伝学的解析により見つかった遺伝子で、統合失調症発症に強い影響力をもち、多数のタンパク質と相互作用し神経発生を調節することが分かっている。当研究室ではショウジョウバエを用い、神経発生や記憶学習におけるDISC1の機能を解析してきた。ハエの脳にヒトDISC1を強制発現させると、学習や睡眠に異常が現れることが明らかになっている。

統合失調症をはじめとした精神疾患は複数の遺伝的要因が関与すると考えられており、複数の脆弱遺伝子間の相互作用を解明する必要がある。本研究では、統合失調症リスク因子間の遺伝的相互作用を解明することを目的に、統合失調症脆弱遺伝子として名前が挙がっているヒト遺伝子と相対的なハエ遺伝子をリストアップし、DISC1と相互作用する遺伝子のスクリーニングを行った。そこで、ショウジョウバエの神経筋接合部(NMJ)の形態的変化を指標とし、DISC1とリスク遺伝子の変異がNMJ形成にどのような影響を及ぼすか観察した。

さらに、当研究室の先行研究により、自閉症脆弱遺伝子のホモログのひとつがDISC1と強い遺伝的相互作用を示し、NMJに形態的変化を及ぼすことが明らかにされた。これは統合失調症の発症メカニズムに、自閉症をはじめとする他の精神疾患のリスク因子が関与している可能性を示唆している。そこでわたしは、本研究でスクリーニングした遺伝子のうち、Nr_x-1 (Neurexin-1)に着目した。ショウジョウバエがもつNr_x-1は、自閉症脆弱遺伝子として知られているヒトNRXN1の相同遺伝子であり、Nr_x-1変異体では学習障害が引き起こされることがわかっている。Nr_x-1変異体の観察を足掛かりとして、さまざまな精神疾患の発症機序に共通するメカニズムを探ることを試みた。

方法

1. 解析用変異体の作製

まず、リスク候補遺伝子の変異をもつ個体をダブルバランスサーシステムと掛け合わせ、変異体をバランス化した。

次に、ハエの染色体にヒトDISC1と変異が導入されている二重変異体を作製し、DISC1との遺伝的相互作用を解析するための変異体として使用した。

2. 採卵・解剖・抗体染色

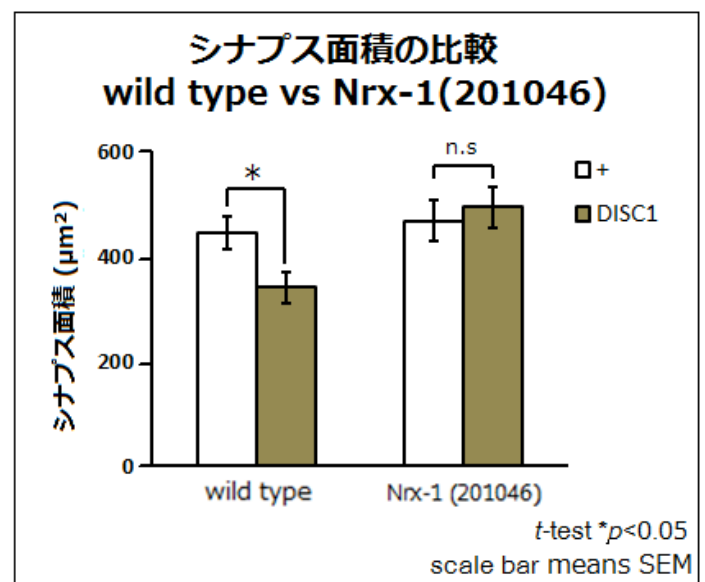
採卵から116-120時間後の3齢幼虫を解剖した。免疫抗体を使用し、NMJを特異的に染色した。

3. 観察・画像解析

共焦点レーザー顕微鏡でサンプルを撮影し、画像解析ソフトImageJを用いてNMJの形態的変化を観察した。解析ではシナプス面積、シナプス数、軸索の分岐数を測定した。

結果・考察

ハエの第2染色体にヒトDISC1を強制発現させたところ、シナプス面積が減少した。これを野生型として、DISC1と候補遺伝子の二重変異体と比較した結果、野生型と同様にシナプス面積の減少がみられたNeutral Typeと、シナプス面積の減少が抑制されたSuppressor Typeの2タイプに大別された。DISC1とNr_x-1の二重変異体は後者に分類されたことから(グラフ参照)、DISC1とNr_x-1による遺伝的相互作用がシナプス形成過程に働いたと考えられる。



今後の展望

さらなる候補遺伝子のスクリーニングを進めていく。同時に、複数のNr_x-1変異体にDISC1を強制発現させた二重変異体におけるNMJの形態的変化の観察を継続することで、Nr_x-1とDISC1の遺伝的相互作用を解析する予定である。現在、様々なNr_x-1の変異体をリストアップし、解析用変異体を作製中である。